

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 22 OCT 2004

WIPO

PCT

31 DEC 2004

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts MIC149WO	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/06948	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 30.06.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 12.07.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK G01N33/543		
Anmelder MICRONAS HOLDING GMBH et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.


2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

- ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 4 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 31.01.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 21.10.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Zellner, E Tel. +49 89 2399-8427



I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-11 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-23 eingegangen am 02.09.2004 mit Schreiben vom 02.09.2004

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/06948

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

- | | |
|--------------------------------|----------------------|
| 1. Feststellung | |
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche 1-23 |
| | Nein: Ansprüche |
| Erfinderische Tätigkeit (IS) | Ja: Ansprüche |
| | Nein: Ansprüche 1-23 |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-23 |
| | Nein: Ansprüche: |

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

- D1: PETER C ET AL: 'OPTICAL DNA-SENSOR CHIP FOR REAL-TIME DETECTION OF HYBRIDIZATION EVENTS' FRESENIUS JOURNAL OF ANALYTICAL CHEMISTRY, SPRINGER, BERLIN, DE, Bd. 371, Nr. 2, September 2001 (2001-09), Seiten 120-127, XP009016890 ISSN: 0937-0633
- D2: US-B1-6 197 503 (VO-DINH TUAN ET AL) 6. März 2001 (2001-03-06)
- D3: WO 00 68692 A (DANIELS R HUGH ;WONG EDITH Y (US); BRUCHEZ MARCEL P (US); EMPEDOCL) 16. November 2000 (2000-11-16)

Neuheit und erfinderische Tätigkeit

- 1.1 D1 beschreibt einen optischen DNA Sensor Chip zum Nachweis von hybridisierender DNA. DNA Targets sind mit Fluorophoren markiert, (entsprechen den Liganden). Diese Targets binden an immobilisierte DNA Proben (entsprechen den Rezeptoren), (Seite 120, linke Spalte Abstract). Als Proben DNA werden "molecular beacons" verwendet, um die Sensitivität zu erhöhen (Seite 121, linke Spalte 2. Absatz). Wie in der gegenwärtigen Anmeldung definiert (Seite 4, Zeile 11-37) weisen diese "beacons" ein Fluorochrom auf. Die DNA Proben sind außerdem biotinyliert (Seite 122, rechte Spalte 3. Absatz und Seite 121, Tabelle). Mit Hilfe des optischen Sensor Systems in D1 ist der Nachweis von mit Fluorophoren markierten Targets möglich. Durch die Verwendung von "beacons", die ebenfalls ein Fluorophor enthalten, scheint der getrennte Nachweis von Rezeptor-Marker Molekülen (in D1 "molecular beacon" als DNA probe) ebenfalls möglich zu sein.
- 1.2 D2 beschreibt einen DNA Biosensor zur Detektion von Nukleinsäuren. Dieser Biosensor besteht aus einem "biochip" der multiple biologische Sensorelemente enthält nämlich DNA Proben (Rezeptor Marker Komplex). Die DNA Proben sind immobilisiert auf einer Detektoroberfläche (Spalte 7, Paragraph 2). Aus Beispiel 15 geht hervor, dass die Gen "probes" mit Fluoreszein markiert sind. Damit ist auch in D2 der unabhängige Nachweis der Rezeptor-Marker-Komplexe von den Rezeptor-Liganden-Komplexen möglich.
- 1.3 D3 (WO-A-0 068 692) beschreibt, dass sowohl die immobilisierten Antigene als

auch die Antikörper spektral nachweisbar sind (Fig. 1 C). In D3 sind also Rezeptoren Marker Komplexe unabhängig von den Rezeptor Liganden Komplexen bestimmbar.

Im Unterschied zu diesen Dokumenten beschränkt sich der Anspruch 1 der gegenwärtigen Anmeldung auf Verfahren zur Bestimmung von Rezeptoren auf einem Träger. Dabei werden die Rezeptoren erst nach Immobilisieren an den Träger nachweisbar, dadurch dass erst nach dem Immobilisieren **Rezeptor-Marker-Komplexe** gebildet werden.

2. Diese Dokumente werden unabhängig voneinander jeweils als nächstliegender Stand der Technik angesehen. Ausgehend von diesen Dokumenten kann die Aufgabe dieser Anmeldung als ein verbessertes Verfahren zur Bestimmung der Zahl von Rezeptoren auf einer Trägeroberflächen definiert werden, bei dem die Menge des tatsächlich immobilisierten Rezeptors exakt bestimmt werden kann. Die Lösung wie in Anspruch 1-23 dargestellt sind Verfahren bei denen Rezeptor-Marker-Komplexe unabhängig von Rezeptor Liganden Komplexen nachgewiesen werden.

Dieses Verfahren geht zwar nicht aus den zitierten Dokumenten hervor, jedoch gibt es in der Anmeldung keinen Beweis für diesen tatsächlich Effekt. Es sind keinerlei Tests vorhanden die einen Hinweis auf diesen Effekt geben. Wenn die Erfindung auf einen technischen Effekt beruht muß dieser über die ganze Breite der Ansprüche erzielbar sein. Dies ist nicht gezeigt und daher kann erfinderische Tätigkeit nicht anerkannt werden.

Die Ansprüche 1-23 sich damit nicht unter Art. 33(3) PCT gewährbar.

3. Zusätzlich wird noch darauf hingewiesen, dass Anspruch 23 in Form eines "product by process" Anspruchs abgefaßt ist. Die PCT Vertragsstaaten haben keine einheitlichen Kriterien für diese Art von Ansprüchen. Für das EPA sind diese Art von Ansprüchen in denen Produkte durch das Herstellungsverfahren gekennzeichnet sind, nur gewährbar, wenn das Produkt als solches die Kriterien der Patentierbarkeit erfüllen, also die Produkte als solche neu und erfinderisch sind.

Geänderte Patentansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung der Zahl von Rezeptoren auf einem Träger, wobei das Verfahren die Schritte umfasst:

5

(a) Bereitstellen eines Trägers;

10

(b) Immobilisieren wenigstens eines Rezeptors auf dem Träger, wobei der Rezeptor die Fähigkeit besitzt mit einem Liganden zu interagieren und einen Rezeptor-Liganden-Komplex zu bilden;

15

(c) nach Immobilisieren des wenigstens einen Rezeptors auf dem Träger: In Kontakt bringen eines Markers mit dem Rezeptor, um einen Rezeptor-Marker-Komplex mit einer lösbaren Bindung zwischen Rezeptor und Marker zu bilden;

20

(d) Ermitteln der Zahl der Rezeptoren auf dem Träger indem die Rezeptor-Marker-Komplexe nachgewiesen werden;

wobei die Rezeptor-Marker-Komplexe unabhängig von Rezeptor-Liganden-Komplexen nachgewiesen werden.

25

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass nach Schritt b) oder c) oder d) zusätzlich der Schritt (i) durchgeführt wird:

30

(i) In Kontakt bringen des Rezeptors mit einer Testprobe, die auf ihren Gehalt an Liganden untersucht wird.

35

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass nach Schritt (i) zusätzlich der Schritt (ii) durchgeführt wird:

(ii) Nachweisen der Rezeptor-Liganden-Komplexe.

4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, da-
durch gekennzeichnet, dass der Träger ein Halbleiter mit
einer Oberfläche aus Silizium, Halbmetalloxiden, insbe-
sondere SiO_x oder Aluminiumoxid ist.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, da-
durch gekennzeichnet, dass der Rezeptor ausgewählt ist
aus der Gruppe bestehend aus Antikörpern, insbesondere
monoklonalen oder polyklonalen Antikörpern sowie funkti-
onellen Fragmenten davon; Proteinen, Oligo- und Polypep-
tiden, Nukleinsäuren, insbesondere DNA, RNA, cDNA, PNA,
Oligo- und Polynukleotiden; sowie Sacchariden, insbeson-
dere Mono-, Di-, Tri-, Oligo- und Polysacchariden.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, da-
durch gekennzeichnet, dass die Bindung zwischen Rezeptor
und Ligand in dem Rezeptor-Liganden-Komplex lösbar ist.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, da-
durch gekennzeichnet, dass die Bindung zwischen Rezeptor
und Ligand eine Halbwertszeit im Bereich von Mikrosekun-
den ($= \mu\text{s}$) oder größer aufweist.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, da-
durch gekennzeichnet, dass n-Rezeptoren n-Marker oder
ein Vielfaches von n an Markern zugeordnet sind.
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch
gekennzeichnet, dass der Marker reaktive Gruppen, insbe-
sondere Thiolgruppen aufweist.

10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Marker ein Farbstoff, insbesondere ein Lumineszenz-Farbstoff, vor allem ein Chemolumineszenz-, Photolumineszenz- oder Biolumineszenz-Farbstoff ist.
11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Marker ein Fluoreszenz-Farbstoff, vorzugsweise ein Fluorochrom, weiter bevorzugt ein Rhodamin, vor allem Tetramethylrhodaminisothiocyanat (= TRITC) ist.
12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Rezeptor eine Eigenfluoreszenz aufweist.
13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Aminosäure Tryptophan die Eigenfluoreszenz liefert.
14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Bindung zwischen Rezeptor und Marker eine Fluoreszenzhalbwertszeit im Bereich von Nanosekunden (= ns) aufweist.
15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Rezeptor-Marker-Komplex einen „fluorescence resonance energy transfer“ (= FRET) aufweist.
16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Fluoreszenz des FRET durch die Interaktion des Liganden mit dem Rezeptor verändert wird.
17. Verfahren nach Anspruch 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Rezeptor den Donor und den Akzeptor des FRET aufweist.

PCT/EP03/06948

4

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Fluoreszenz beim Donor entsteht, oder die Fluoreszenz beim Akzeptor ausgelöscht wird.
- 5 19. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass der Ligand als Donor des FRET wirkt.
- 10 20. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass der Ligand den Donor und den Akzeptor des FRET direkt in Kontakt bringt.
- 15 21. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass fluoreszenzmarkierte Liganden verwendet werden.
- 20 22. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Marker ein Mikropartikel ist.
23. Biosensor, insbesondere Proteinsensor, herstellbar nach einem Verfahren gemäß den Ansprüchen 1 bis 22.